

# 細菌の薬剤耐性に関する研究

## 第 12 報

### 腸内細菌を用いての実験

#### 第 2 編 腸内細菌に対する各種薬剤の併用効果に関する研究

##### その 2 細菌の薬剤耐性化に及ぼす併用効果について

金沢大学結核研究所細菌免疫部（主任：柿下正道教授）

村 上 康 正

（受付：昭和34年 3 月20日）

## 緒 論

前報<sup>44)</sup>において私は管内実験により薬剤の併用が腸内細菌の発育阻止力に及ぼす影響について観察した。今回は更に耐性獲得に及ぼすこれら薬剤の併用効果を検索するため前回と同様の

菌および薬剤を用い 25 代継代培養して菌の薬剤耐性化の推移を観察した。以下その成績の概要を報告する。

## 実 験 方 法

### 1. 供試薬剤

前報記載のもの以外に O-Aminophenol (OM) (金大結研製, 末) を追加した。

### 2. 供試菌株および菌液

前法と同じ菌株および菌液を用い各種併用薬剤ごとに主剤ならびに併用剤の可及的高濃度の組み合わせに発育した試験管より継代株を選んだ。

### 3. 供試培地ならびに培養法

培地, 培養法および薬剤の組み合わせは前報と同様に行い, 継代ごとに主剤ならびに併用剤単独の系列にも接種して薬剤併用による主剤ならびに併用剤に対する感受性の推移と, それぞれの薬剤単独系列に継代培養した場合の菌の薬剤耐性化の経過とを比較検討した。

## 実 験 成 績

〔1〕 薬剤併用培地継代培養の場合と, 主剤および併用剤培地にそれぞれ単独継代培養した場合の菌の主剤および併用剤に対する感受性の推移を比較したものは第1図 (A, B) で, 薬剤の濃度を縦軸に, 継代数を横軸にとり, 菌の主剤単独培地継代培養による耐性化の状況を太実線, 併用剤単独培地継代培養による耐性化の状況を細実線で示し, 薬剤併用培地継代培養の場合の主剤に対する耐性化の状況を太破線, 併用

剤に対する耐性化の状況を細破線で示した。

### A. SM を主剤とせる実験

#### I) SM—AM 併用について

Salm. paraty. B の SM 耐性化は AM 併用によりその単独系列の場合と比較すると初期には併用効果は認められないが, 7 代以後耐性化の上昇はほとんどなく, AM 耐性化は SM 併用により初期よりかなり抑制された (第1図, A. 1. a.). Shig. flex. 2a の SM 耐性化は AM 併用に

より初期より著明に抑制されたが、SM併用によるAM耐性化抑制効果は少なかった(第1図, A. 1. b.).

#### Ⅱ) SM—TM併用について

Salm. paraty. BのSM耐性化に対するTM併用効果は継代初期には認められないが6代以後は著明に認められる。TM耐性化もまたSM併用により著明に抑制され25代に至るも菌のTM耐性度は初代の2倍以上には上昇せず、かつ途中において一時感受性の増強が認められた(第1図, A. 2. a.). Shig. flex. 2aのSM耐性化はTM併用により初期より著明に抑制され、TM耐性化もまたSM併用により抑制され、一時感受性の増強が認められ25代に至るも菌のTM耐性度は初代の2倍以上には上昇しなかった(第1図, A. 2. b.).

#### Ⅲ) SM—Pc併用について

Salm. paraty. BのSM耐性化はPc併用により階段式的にかなり遅延し、Pc耐性化はSM併用により7代以後抑制された(第1図, A. 3. a.). Shig. flex. 2aのSM耐性化はPc併用により初期より著明に抑制され、Pc耐性化もSM併用によりある程度抑制された(第1図, A. 3. b.).

#### Ⅳ) SM—GF併用について

Salm. paraty. BのSM耐性化はGF併用により階段式的にかなり遅延し、GF耐性化はSM併用により完全に阻止され、一時感受性の増加が認められた(第1図, A. 4. a.). Shig. flex. 2aのSM耐性化はGF併用により初期より著明に抑制され、GF耐性化もSM併用によりかなり遅延した(第1図, A. 4. b.).

#### Ⅴ) SM—Sul併用について

Salm. paraty. BのSM耐性化はSul併用により階段式的にある程度遅延し、Sul耐性化はSM併用によりある程度抑制された(第1図, A. 5. a.). Shig. flex. 2aのSM耐性化はSul併用により初期より著明に抑制され、Sul耐性化はSM併用により階段式的にある程度遅延した(第1図, A. 5. b.).

#### Ⅵ) SM—PAS併用について

本実験では培地内PAS濃度は最高1,000 $\gamma$ /mlにとどめた。Salm. paraty. BのSM耐性化はPAS併用によりその単独系列の場合よりかえってわずかに促進し(第1図, A. 6. a.), Shig. flex. 2aのSM耐性化はわずかに遅延するのみ(第1図, A. 6. b.)でともに併用効果は認め難い。

#### Ⅶ) SM—INAH併用について

本実験では培地内INAH濃度は最高1,000 $\gamma$ /mlにとどめた。Salm. paraty. BのSM耐性化はINAH併用によりある程度遅延し(第1図, A. 7. a.), Shig. flex. 2aのSM耐性化は15代まで階段式的に遅延し、それ以後は上昇せず著明に抑制された(第1図, A. 7. b.).

#### Ⅷ) SMと各種濃度のINAH添加について

Salm. paraty. BのSM耐性化はINAH 1 $\gamma$ /mlおよび10 $\gamma$ /ml添加では等しくほとんど影響されず、INAH 100 $\gamma$ /ml添加でわずかに遅延され(第1図, A. 7. a.), Shig. flex. 2aのSM耐性化はINAH 1 $\gamma$ /mlおよび10 $\gamma$ /ml添加である程度遅延し、INAH 100 $\gamma$ /ml添加では著明に抑制された(第1図, A. 7. b.).

#### B. CMを主剤とせる実験

##### I) CM—AM併用について

Salm. paraty. BのCM耐性化はAM, AM耐性化はCM併用によりともにある程度抑制された(第1図, B. 1. a.)がShig. flex. 2aのCM耐性化はAM併用, AM耐性化はCM併用によりともにほとんど抑制されなかった(第1図, B. 1. b.).

##### Ⅱ) CM—TM併用について

Salm. paraty. BのCM耐性化はTM併用, TM耐性化はCM併用によりわずかに抑制され(第1図, B. 2. a.), Shig. flex. 2aのCM耐性化はTM併用, TM耐性化はCM併用によりともにわずかに抑制されるのみであつた(第1図, B. 2. b.).

##### Ⅲ) CM—Pc併用について

Salm. paraty. BのCM耐性化はPc併用によりわずかに抑制されたが、Pc耐性化はCM併用によりかえって一時促進され抑制効果は認

められなかつた(第1図, B. 3. a.). *Shig. flex. 2a*のCM耐性化はPc併用によりかなり抑制され, Pc耐性化もCM併用によりある程度抑制された(第1図, B. 3. b.).

#### IV) CM—GF 併用について

*Salm. paraty. B*のCM耐性化はGF併用によりかなり抑制され, GF耐性化はCM併用により完全に阻止された(第1図, B. 4. a.). *Shig. flex. 2a*のCM耐性化はGF併用, GF耐性化はCM併用によりともにある程度抑制された(第1図, B. 4. b.).

#### V) CM—Sul 併用について

*Salm. paraty. B*のCM耐性化はSul併用によりかなり抑制され, Sul耐性化はCM併用によりある程度抑制された(第1図, B. 5. a.). *Shig. flex. 2a*のCM耐性化はSul併用によりある程度抑制され, Sul耐性化はCM併用によりかなり遅延した(第1図, B. 5. b.).

#### VI) CM—PAS 併用について

本実験では培地内PAS濃度は最高1,000  $\gamma$ /mlにとどめた. PAS併用により *Salm. paraty. B*および *Shig. flex. 2a*のCM耐性化はいずれもかなり抑制された(第1図, B. 6. a. b.).

#### VII) CMと各種濃度のPAS添加について

*Salm. paraty. B*のCM耐性化に対しPAS 1  $\gamma$ /ml添加はほとんど抑制効果を及ぼさなかつたが, PAS 10  $\gamma$ /ml および 100  $\gamma$ /ml 添加は

ある程度の抑制効果を及ぼした(第1図, B. 6. a.). また *Shig. flex. 2a*のCM耐性化はPAS 1  $\gamma$ /ml および 10  $\gamma$ /ml 添加ではほとんど抑制されなかつたが, PAS 100  $\gamma$ /ml 添加である程度抑制された(第1図, B. 6. b.).

#### VIII) CM—INAH 併用について

本実験では培地内INAH濃度は最高1,000  $\gamma$ /mlにとどめた. INAH併用により *Salm. paraty. B*のCM耐性化はかえつて一時促進されINAHの抑制効果は認め難かつた(第1図, B. 7. a.)が, *Shig. flex. 2a*のCM耐性化はわずかに抑制された(第1図, B. 7. b.). なお *Shig. flex. 2a*に対してCM—INAH併用は培養の初期にはindifferentであつたが継代培養を続けると第1表に示すごとく拮抗作用を示した.

#### IX) CMと各種濃度のOM添加について

*Salm. paraty. B*のCM耐性化に対しOM 1  $\gamma$ /ml および 10  $\gamma$ /ml 添加はほとんど抑制効果がなく, OM 100  $\gamma$ /ml 添加である程度の抑制効果を認めた(第1図, B. 8. a.). *Shig. flex. 2a*のCM耐性化に対してもOM 1  $\gamma$ /ml および 10  $\gamma$ /ml 添加ではほとんど抑制効果がなかつたが, OM 100  $\gamma$ /ml ではかなりの抑制効果を認めた(第1図, B. 8. b.).

以上の成績を総括すると第2表のごとくである.

## 考 案

薬剤併用による菌の薬剤耐性化抑制に関する報告は数多い<sup>11)12)14)15)17)17)18)19)29)——43)</sup>が, あらかじめいかなる薬剤を選択して併用すれば耐性化抑制を期待できるかについてはいまだ模式化されたものはない. この際まず考えられることは菌の耐性化しやすい薬剤と耐性化し難い薬剤を併用する方法で, Kleinら<sup>41)</sup>および内藤<sup>39)</sup>は, このような組み合わせの場合併用効果を認めると報告しているが, 岩田ら<sup>16)</sup>および小林<sup>43)</sup>は併用効果が特別このような組み合わせのみからも

たらされるものでないと論じている.

本実験ではSMを主剤とした場合 *Salm. paraty. B*の耐性化しやすいAMあるいはTMが, 耐性化し難いGFより強く菌のSM耐性化を抑制し, *Shig. flex. 2a*のSM耐性化をいずれの薬剤もほぼ同程度に抑制している. またCMを主剤とした場合両菌の耐性化しやすいSulが, 耐性化し難いAMあるいはTMより強く両菌のCM耐性化を抑制しており薬剤併用効果の機序を単にこの方面からのみ説明するこ

とはできないように考える、

発育阻止力に及ぼす併用効果の点からみると、岩崎<sup>42)</sup>は協力作用のある場合に耐性化抑制効果があると述べ、Kleinら<sup>43)</sup>はPcとSulの併用で培養初期には拮抗作用がみられるが培養を続けると協力的になり、したがって耐性化を抑制できると報告しているが、小林<sup>10)</sup>は大腸菌を用いての実験でCM—GF併用で全培養経過を通じて拮抗作用の観察される場合も、また<sup>18)</sup>SM—GF併用で協力作用のある場合およびindifferentの場合も耐性化抑制効果には差を見出さなかつたといっている。本実験に用いた薬剤の組み合わせでは前報<sup>44)</sup>のごとく協力的であるか indifferent であるかであつて拮抗作用認はめられず、かつ協力作用のあつたSM—PAS併用が *Salm. paraty. B* の SM 耐性化を促進した以外はいずれの組み合わせにおいても程度の差はあるが耐性化抑制効果が認められ、初期に indifferent であつた *Shig. flex. 2a* に対する CM—INAH 併用は培養を続けると拮抗作用を示したが、CM 耐性化は抑制されており、薬剤併用による耐性化抑制効果と協力作用または拮抗作用との相関関係も認められなかつた。

交差耐性を認めるものの相互関係についてみると、山川<sup>38)</sup>は SM と CM 間に交差耐性はあるが耐性化抑制はできると述べており、一方御簾納<sup>17)</sup>は交差耐性の認められない薬剤の組み合わせの場合に耐性化抑制は著しく現われるもので、たとえば赤痢菌の SM 耐性化は TM または CM の併用により完全に阻止されたと報告し、内藤<sup>39)</sup>も耐性化機序や耐性化態度の似かよつた抗生剤の併用は耐性化防止にならず併用によつてかえつて耐性化を促進したといい、小林<sup>45)</sup>は交差耐性のある薬剤を併用しても耐性化抑制効果は期待できず、それ以外の組み合わせではいずれの組み合わせにおいても程度の差はあるが抑制効果が認められたが耐性完全阻止は認められなかつたといっている。

本実験においても交差耐性の認められる CM—AM および CM—TM 併用継代培養による耐性化抑制効果は明らかに他の組み合わせより劣ることが認められた。

また菌の SM または CM 耐性化の完全阻止はできなかつたが、*Salm. paraty. B* の GF 耐性化を SM または CM 併用によつて完全に阻止することができた。

なお抗結核剤の併用が腸内細菌の SM および CM 耐性化に及ぼす影響について観察したところ SM—PAS 併用では両菌に対し SM 耐性化抑制効果は全く認め難く、SM—INAH 併用では INAH の濃度に比例して両菌の SM 耐性化に対し抑制効果が認められ、ことに *Shig. flex. 2a* に対しては著明であつた。そこで金沢大学医学部微生物学教室より分与された *Salmonella typhi* 相川株 (*Salm. ty.*), *Shigella flexneri* 1b 15号株 (*Shig. flex. 1b*), *Shigella flexneri* 3a 園口株 (*Shig. flex. 3a*), *Shigella flexneri* variant y 駒込 BI 原株 (*Shig. flex. vari. y*), および *Shigella sonnei* 渡枝株 (*Shig. son.*) ならびに金沢市中央保健所において昭和33年に分離した *Shigella flexneri 2a* のうち任意の2株すなわち岡田株 (*Shig. flex. 2a* 岡田) および茶谷株 (*Shig. flex. 2a* 茶谷) について同様の実験を試みた結果第2図のごとく *Shig. flex. 2a* (2株) および *Shig. flex. 3a* の SM 耐性化は INAH により著明に抑制された。また CM—INAH 併用効果は少なかつたが、CM—PAS の併用は両菌に対しても CM 耐性化抑制効果が認められたので、PAS と類似構造の OM を CM と併用したところ PAS 同様に CM 耐性化抑制効果が認められた。このように単独では腸内細菌に対してほとんど抗菌作用を示さない抗結核剤が腸内細菌の SM または CM に対する耐性化を抑制するという知見を得たことはまことに興味あることであるとともにその示唆するところ、ははなはだ重要であると考えるものである。

## 結

*Salm. paraty. B* および *Shig. flex. 2a* を SM または CM とその他の各種薬剤とを併用したペプトン水培地に25代継代培養して、菌の薬剤耐性化に対する併用効果を観察して次の成績を得た。

1. *Salm. paraty. B* の SM 耐性化抑制には AM または TM, *Shig. flex. 2a* の SM 耐性化抑制には AM, TM, Pc, GF, Sul または INAH の併用が有効であつた。

2. *Salm. paraty. B* の CM 耐性化抑制には GF, Sul, PAS または OM, *Shig. flex. 2a* の

## 論

CM 耐性化抑制には Pc, PAS または OM の併用が有効であつた。

3. SM は両菌の TM および GF 耐性化を抑制し, *Salm. paraty. B* の GF 耐性化を完全に阻止した。

4. CM は *Salm. paraty. B* の GF 耐性化を完全に阻止した。

5. *Salm. paraty. B* あるいは *Shig. flex. 2a* に対し全く抗菌作用のない抗結核剤が菌の SM または CM 耐性化を抑制するという知見はきわめて重要である。

## 文

- 29) Carpenter, C. M., et al. : Proc. Soc. Expt. Biol. & Med., 60, 168, 1945. 30) Demerec, M. T. : J. Bact., 54, 3, 1947.  
31) Klein, M. & Kimmelman, L. T. : J. Bact., 45, 363, 1947. 34) Purcell, E. M., et al. : Proc. Soc. Expt. Biol. & Med., 82, 124, 1953. 35) Finand, M. & Wilcox, C. : Proc. Soc. Expt. Biol. & Med., 83, 605, 1953.  
36) Wright, S. S., et al. : Proc. Soc. Expt. Biol. & Med., 88, 128, 1954. 37) 渡辺暉

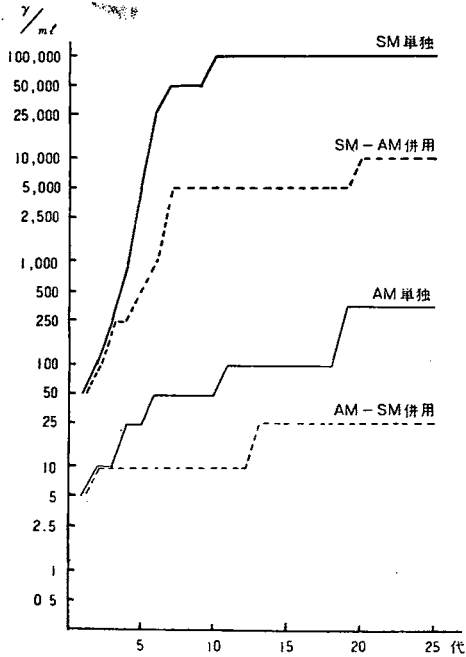
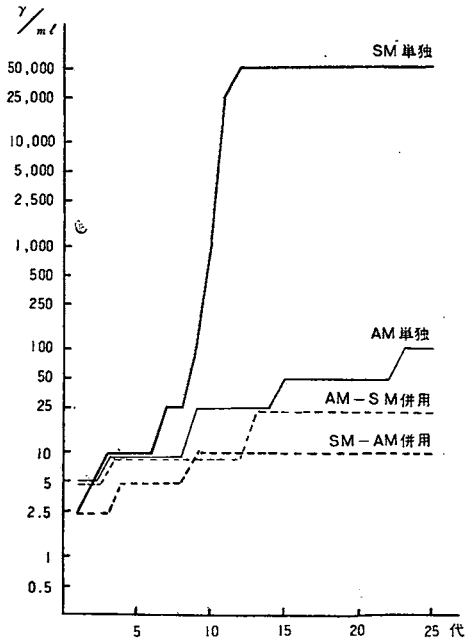
## 献

- 邦 : 成医会雑誌, 65 (4), 24, 1951. 38) 山川澂 : J. Antib., 5 (2), 117, 1952. 39) 内藤寛 : J. Antib., Ser. B, 6 (2), 86, 1953.  
40) 河盛勇造, 他 : J. Antib., Ser. B, 6 (3), 121, 1953. 41) Klein, M. & Schorr, S. E. : J. Bact., 65, 454, 1953. 42) 岩崎旺太郎 : 日本化学療法学会雑誌, 2 (3), 130, 1954.  
43) 小林裕 : J. Antib., Ser. B, 8 (7), 286, 1955. 44) 村上康正 : 金大結核年報, 17 (上), 163, 1959.

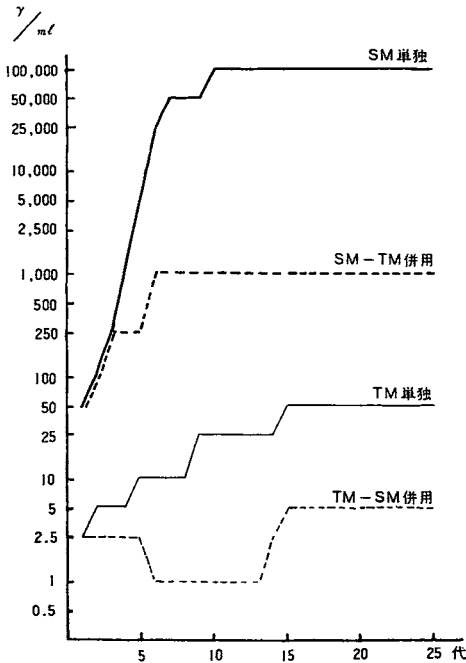
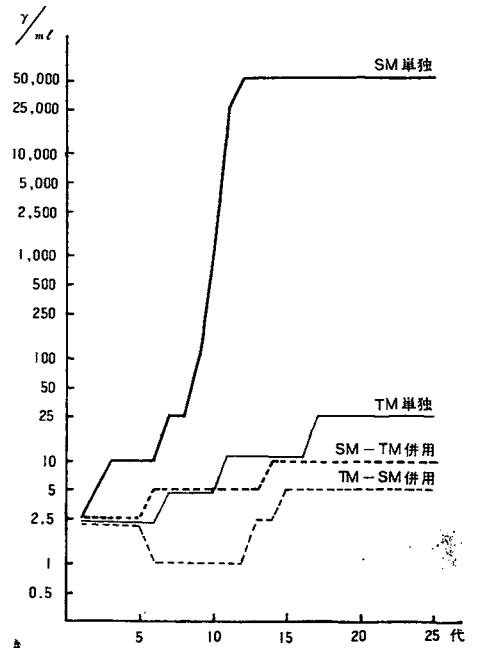
第1図 薬剤併用による耐性獲得の推移

## A. SMを主剤とせる実験

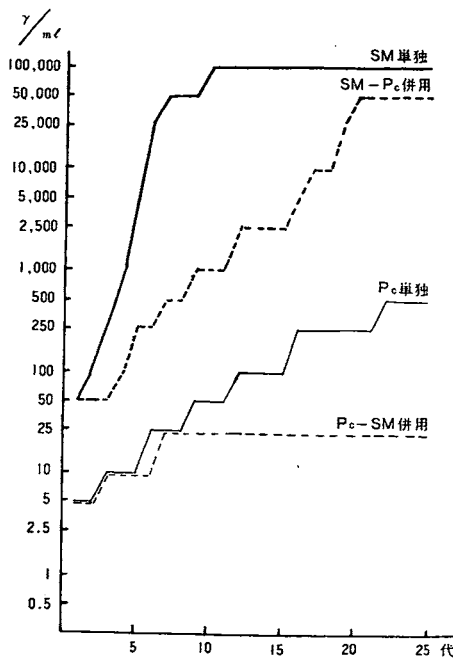
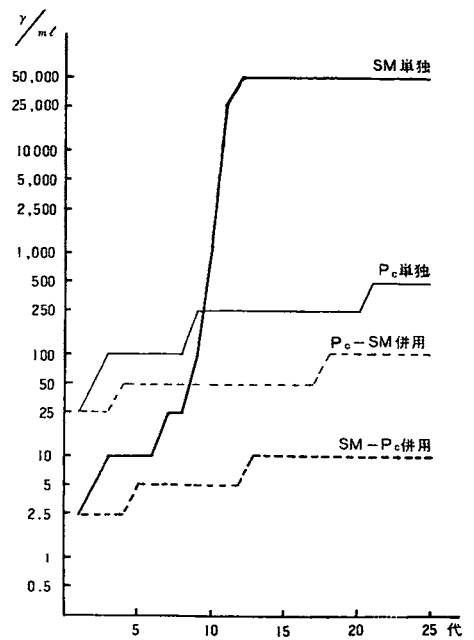
## 1. SM—AM 併用

a. *Salm. paraty. B*b. *Shig. flex. 2a*

## 2. SM—TM 併用

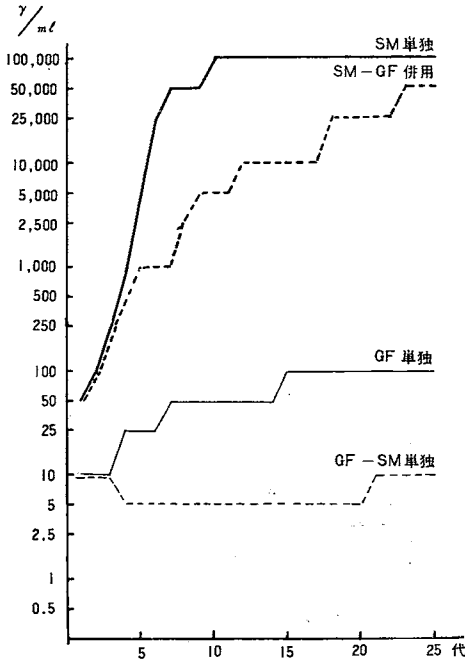
a. *Salm. paraty. B*b. *Shig. flex. 2a*

## 3. SM—Pc 併用

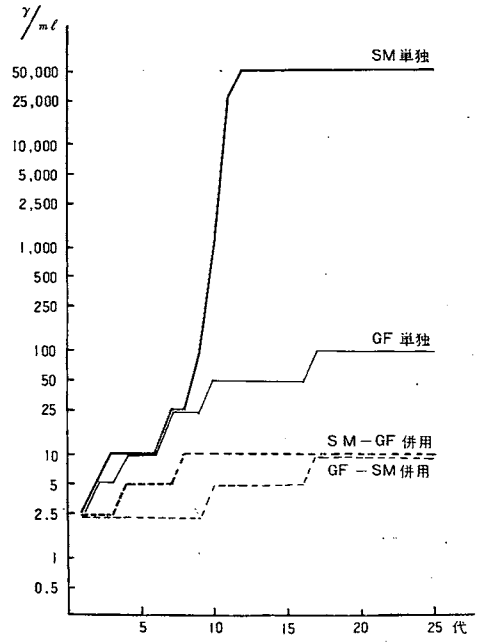
a. *Salm. paraty. B*b. *Shig. flex. 2a*

4. SM—GF 併用

a. *Salm. paraty. B*

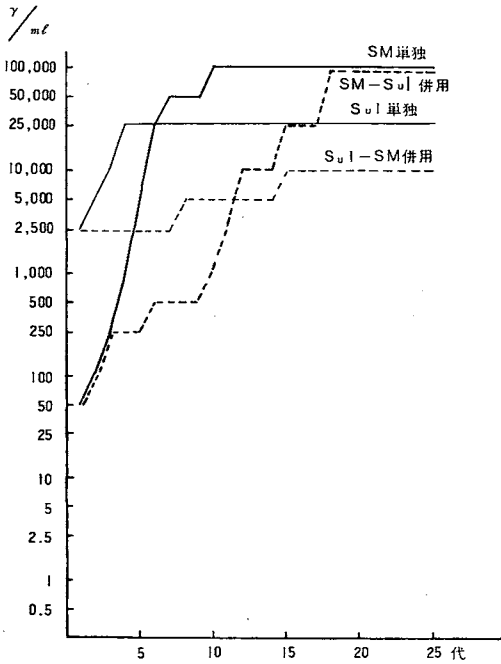


b. *Shig. flex. 2a*

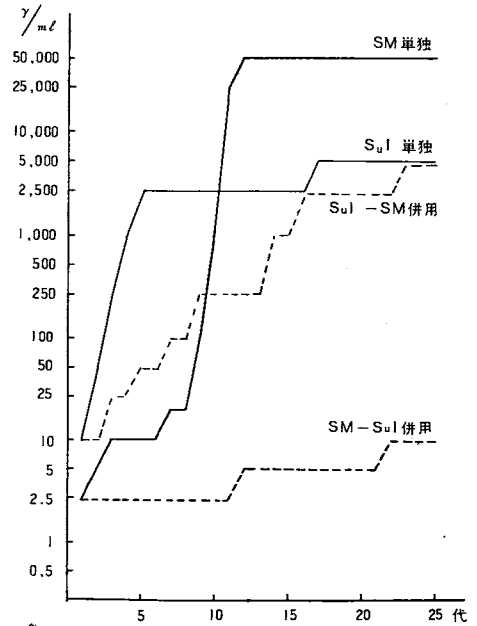


5. SM—Sul 併用

a. *Salm. paraty. B*

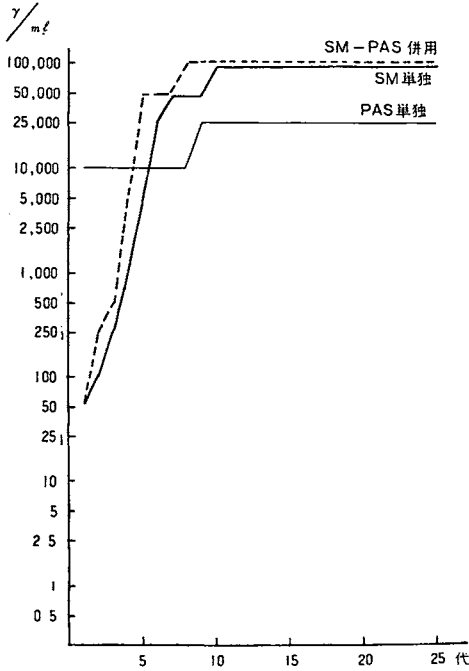
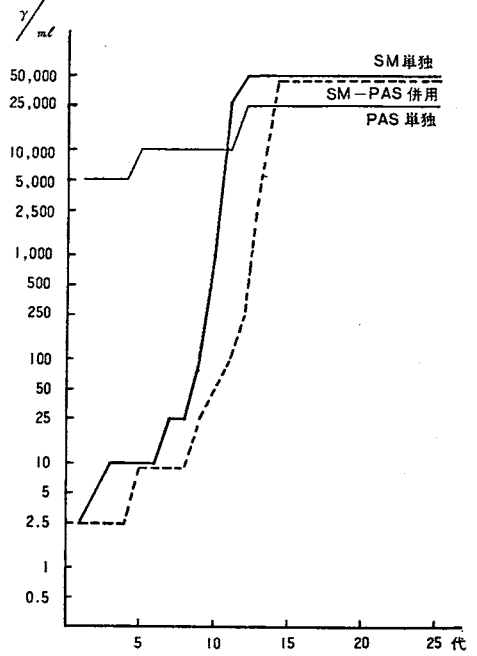


b. *Shig. flex. 2a*

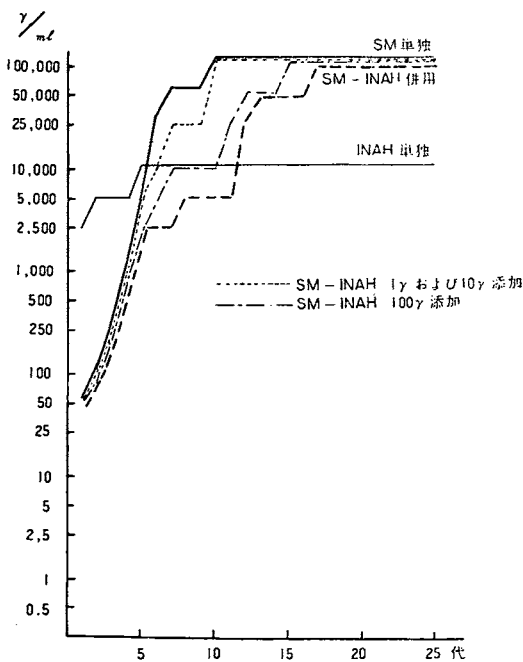
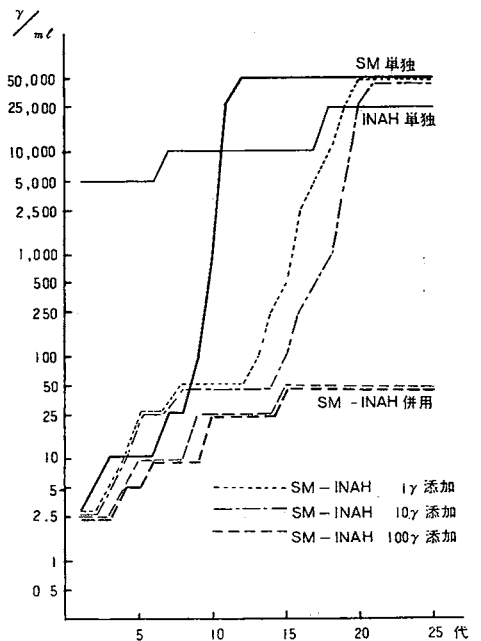




## 6. SM—PAS 併用

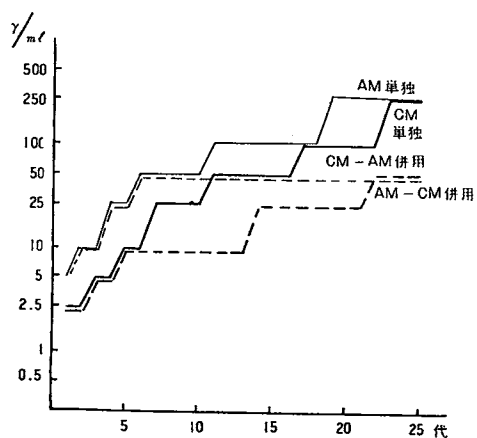
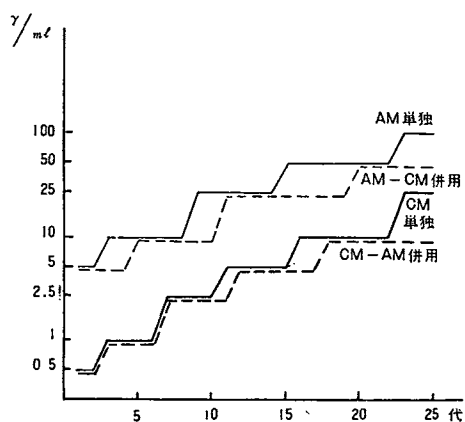
a. *Salm. paraty. B*b. *Shig. flex. 2a*

## 7. SM—INAH 併用

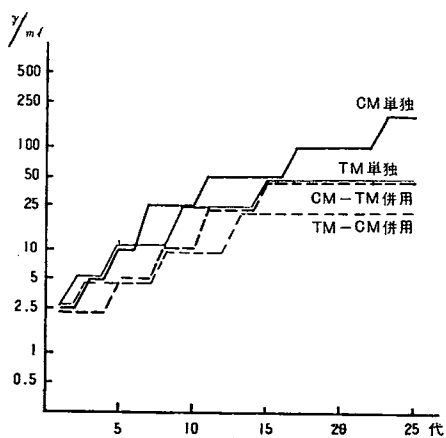
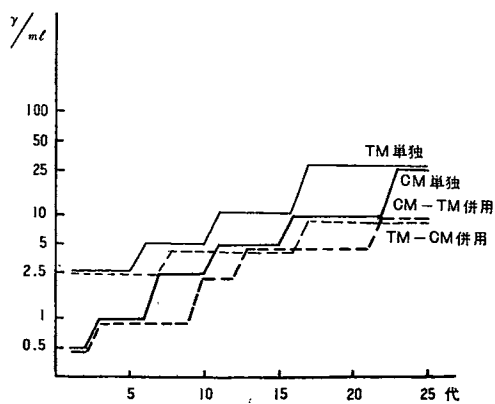
a. *Salm. paraty. B*b. *Shig. flex. 2a*

## B. CMを主剤とせる実験

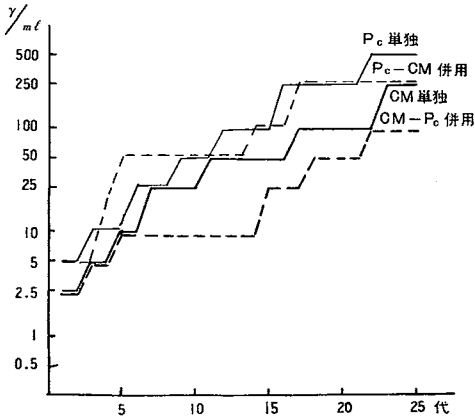
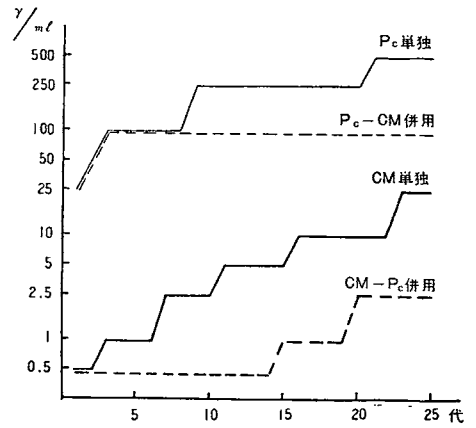
## 1. CM—AM 併用

a. *Salm. paraty. B*b. *Shig. flex. 2a*

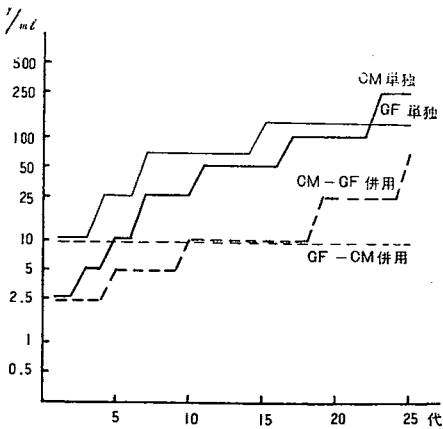
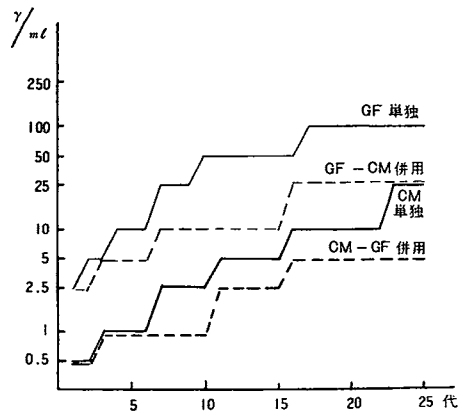
## 2. CM—TM 併用

a. *Salm. paraty. B*b. *Shig. flex. 2a*

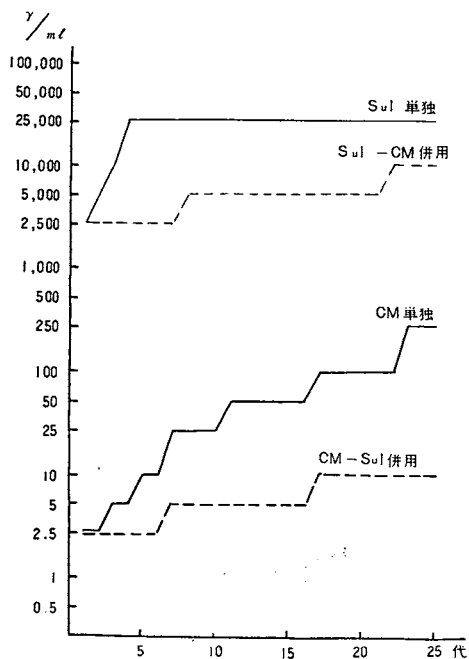
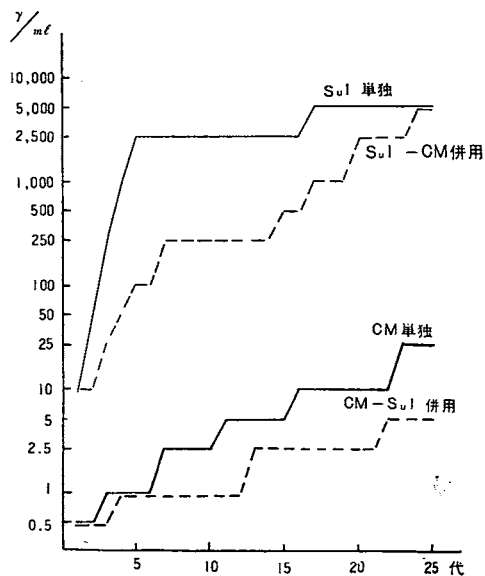
## 3. CM—Pc 併用

a. *Salm. paraty. B*b. *Shig. flex. 2a*

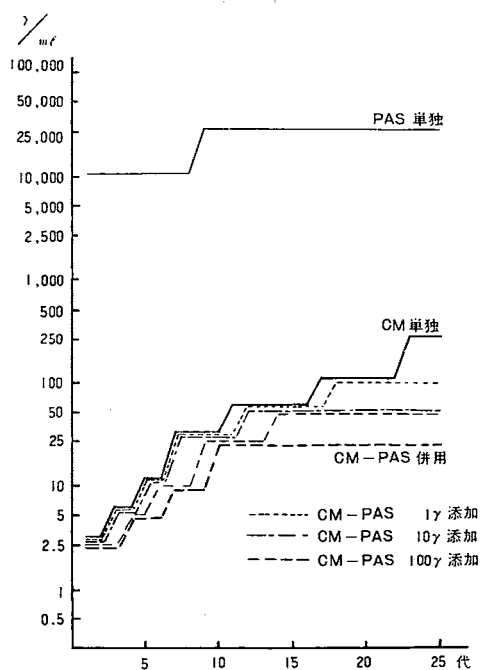
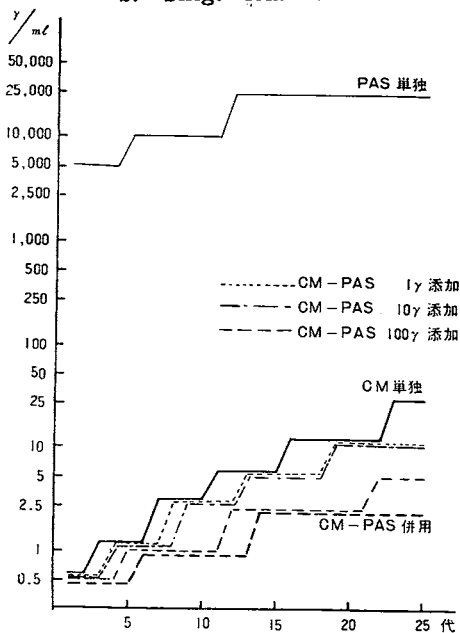
## 4. CM—GF 併用

a. *Salm. paraty. B*b. *Shig. flex. 2a*

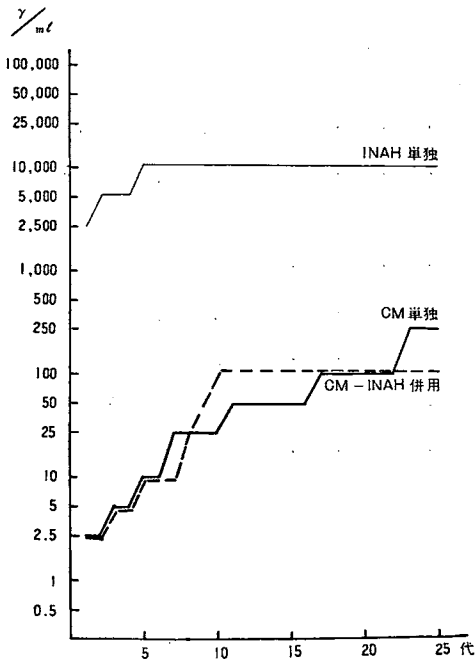
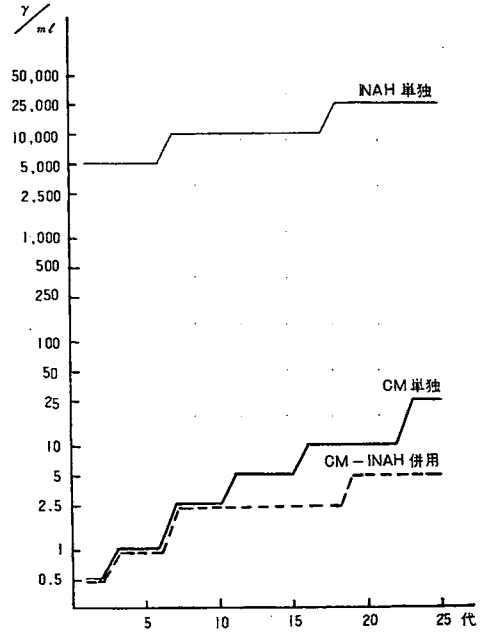
## 5. CM—Sul 併用

a. *Salm. paraty. B*b. *Shig. flex. 2a*

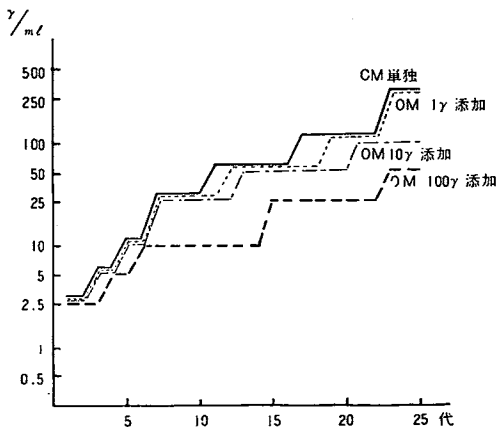
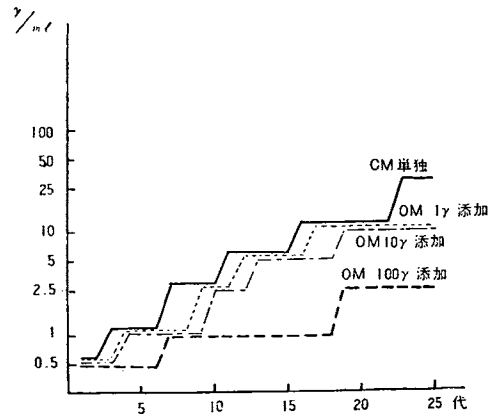
## 6. CM—PAS 併用

a. *Salm. paraty. B*b. *Shig. flex. 2a*

## 7. CM—INAH 併用

a. *Salm. paraty. B*b. *Shig. flex. 2a*

## 8. CM—OM 併用

a. *Salm. paraty. B*b. *Shig. flex. 2a*

第1表 Shig. flex. 2a を用いてCM—INAH併用継代培養中に現われた拮抗作用

## 1. 第10代

CM <sub>r</sub> INAH <sub>r</sub>	100	50	25	10	5	2.5	1	0.5	0.1	cont.
1,000	—	—	—	—	++	++	++	++	++	++
500	—	—	—	—	++	++	++	++	++	++
250	—	—	—	—	—	++	++	++	++	++
100	—	—	—	—	—	++	++	++	++	++
50	—	—	—	—	—	++	++	++	++	++
10	—	—	—	—	—	++	++	++	++	++
1	—	—	—	—	—	++	++	++	++	++
cont.	—	—	—	—	—	++	++	++	++	++

## 2. 第25代

CM <sub>r</sub> INAH <sub>r</sub>	100	50	25	10	5	2.5	1	0.5	0.1	cont.
1,000	—	—	—	++	++	++	++	++	++	++
500	—	—	—	++	++	++	++	++	++	++
250	—	—	—	++	++	++	++	++	++	++
100	—	—	—	—	++	++	++	++	++	++
50	—	—	—	—	++	++	++	++	++	++
10	—	—	—	—	++	++	++	++	++	++
1	—	—	—	—	++	++	++	++	++	++
cont.	—	—	—	—	++	++	++	++	++	++

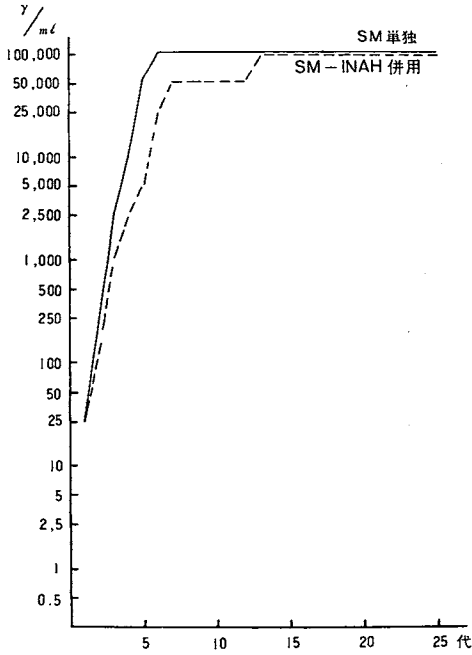
第2表 薬剤併用による耐性化抑制効果総括

			主剤に対する併用効果		併用剤に対する主剤の併用効果	
菌 株			S. paraty. B	S. flex. 2a	S. paraty. B	S. flex. 2a
SM を主剤とせる場合	併 用 剤	AM	++	++	++	+
		TM	++	++	++	++
		Pc	+	++	++	+
		GF	+	++	++	++
		Sul	+	++	+	+
		PAS	—	—	•	•
		INAH	+	++	•	•
CM を主剤とせる場合	併 用 剤	AM	+	—	+	—
		TM	+	+	+	+
		Pc	+	++	—	+
		GF	++	+	++	+
		Sul	++	+	+	+
		PAS	++	++	•	•
		INAH	—	+	•	•
		OM	+	++	•	•

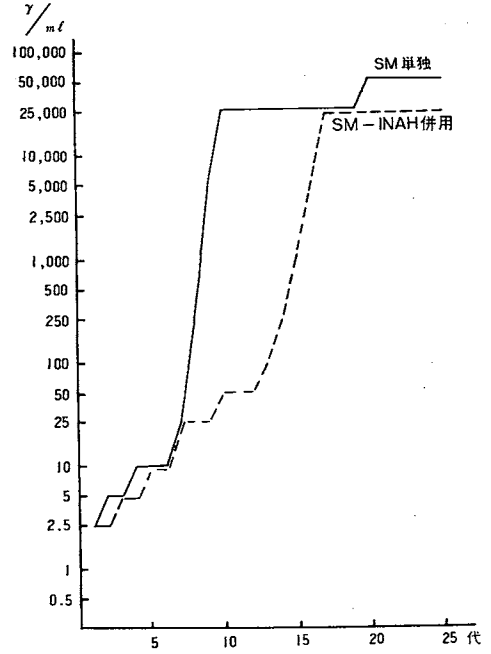
- : 耐性化抑制効果の認め難いもの  
 + : " の少ないもの  
 ++ : " の認められるもの  
 +++ : " の著明なもの  
 +++ : 耐性化を完全に阻止したもの  
 • : 実施しなかつたもの

第2図 INAH 併用によるSM耐性化抑制効果

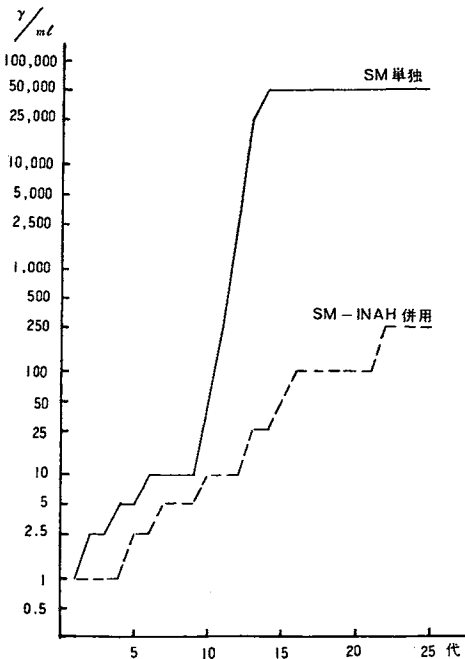
## 1. Salm. ty.



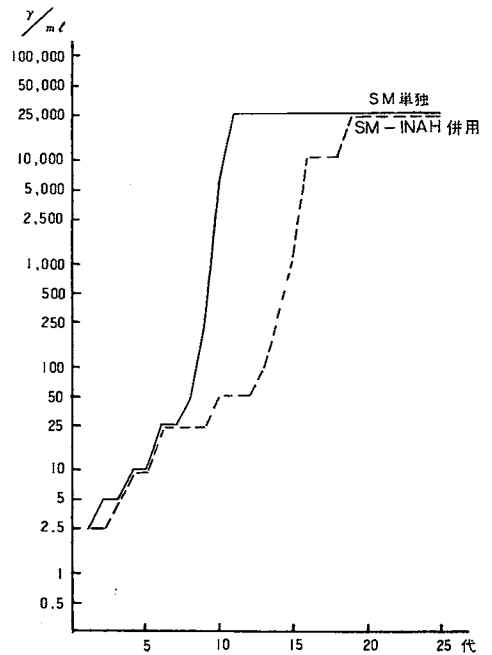
## 2. Shig. flex. lb



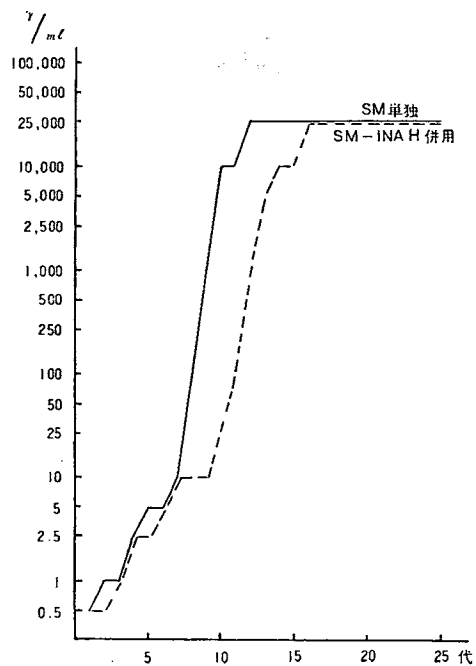
## 3. Shig. flex. 3a



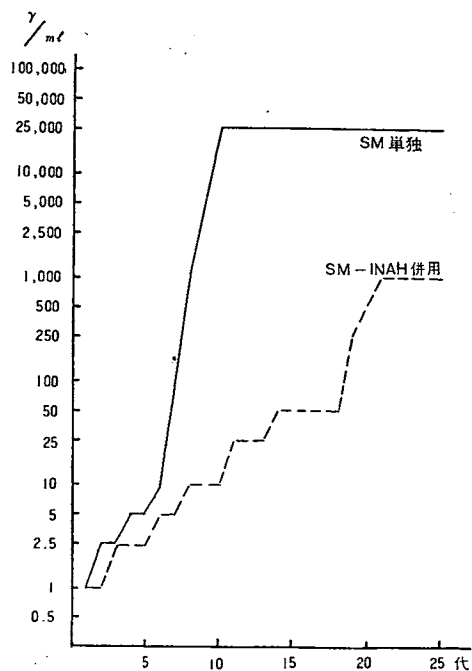
## 4. Shig. flex. vari. y



## 5. Shig. son.



## 6. Shig. flex. 2a 岡田株



## 7. Shig. flex. 2a 茶谷株

